

# Expresión moderada-alta de la proteína p53 como factor de riesgo para localización múltiple en carcinomas basocelulares

*Expression presented of the protein p53 as a factor of risk for location multiple in carcinomas basal cell*

**Soky Del Castillo-Cabrera,<sup>1</sup> Emma Escalante-Jibaja,<sup>1</sup>  
Nancy Rosas-Marroquín,<sup>2</sup> Carlos Susanibar-Arteaga,<sup>2</sup>  
Ewdis Mattos-Guerra<sup>2</sup>**

## RESUMEN

**OBJETIVO.** Demostrar que la expresión moderada-alta de la proteína p53 constituye factor de riesgo para localización múltiple en carcinomas basocelulares. **MÉTODOS.** Estudio de casos y controles realizado en el Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú (HCFAP). La población estuvo constituida por 42 pacientes con carcinoma basocelular múltiple (grupo de casos) y 84 controles con carcinoma basocelular único pareados por localización de la lesión inicial en una relación 2:1 con los casos. Se obtuvo datos de las historias clínicas y del reporte de anatomía patológica. A todas las muestras se les realizó la medición de la expresión de la proteína p53, mediante inmunohistoquímica. Se considera moderada cuando se evidenció una tinción intranuclear marrón de 50% a 74% de los núcleos y alta cuando la tinción se produjo en más de 75% de los núcleos. **RESULTADOS.** En 93% de los pacientes con carcinoma basocelular de localización múltiple hubo expresión moderada-alta de la proteína p53 en comparación con 68% en el grupo control, se obtuvo en el análisis multivariado un odds ratio ajustado de 5,9 (IC95%: 1,655-20,932) con control de las variables edad y sexo. La expresión cuantitativa promedio de la proteína p53 el grupo de casos fue de 64,5% ± 19,2% en comparación con el grupo de controles en que fue de 30,2% ± 17,2% para lo cual existió diferencia estadísticamente significativa (prueba t de Student;  $p < 0,001$ ). **CONCLUSIÓN.** La expresión moderada alta de la proteína p53 en la lesión inicial constituye factor de riesgo para localización múltiple en carcinomas basocelulares en pacientes del HCFAP.

**PALABRAS CLAVE.** Proteína p53 carcinoma basocelular múltiple.

## ABSTRACT

**OBJECTIVE.** Demonstrate that the moderate expression of the p53 protein is risk factor for multiple location in basal cell carcinomas. **METHODS.** Study of cases and controls carried out in the Hospital Central of the force air from the Peru (HCFAP). The population consisted of 42 patients with carcinoma multiple basal cell (case group) and 84 controls with basal cell carcinoma only matched by location of the initial lesion in a 2:1 ratio with the cases. Data records and the pathology report were obtained. The expression

of Immunohistochemistry using p53 protein was measured being moderate if evidenced an intranuclear staining Brown 50% to 74% of the nuclei and high if the stain has occurred in more than 75% of the nuclei. **RESULTS.** 93% of patients with basal cell carcinoma of multiple location had moderate expression of p53 protein compared with 68% of the control group obtaining an adjusted Odds Ratio of 5.9 in the multivariate analysis (95% CI: 1, 655-20, 932) with control of the age and sex variables. Average the quantitative expression of the p53 protein cases was 64.5% ± 19.2% in comparison with the Group of controls in which was 30.2% ± 17.2% for which there was statistically significant difference (test student's t,  $p < 0.001$ ). **CONCLUSION.** Moderate expression of the protein p53 in the initial lesion is a risk factor for multiple location in basal cell carcinoma in patients of the HCFAP.

**KEY WORDS.** protein p53, multiple basal cell carcinoma.

1. Servicio de Dermatología, Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú. Lima, Perú.
2. Servicio de Patología, Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú. Lima, Perú.

## INTRODUCCIÓN

La transformación neoplásica de las células es mediada por un conjunto de genes conocidos como oncogenes y genes supresores tumorales. Dentro de estos últimos destaca el gen p53, que es denominado como 'el guardián del genoma', por su relevante función para identificar e impedir la multiplicación de células cuyo ADN ha sido alterado por factores que tienen la capacidad de inducir cambios en su estructura (agentes mutagénicos) y que por este mismo mecanismo inducen el fenómeno de la transformación maligna, lo que los convierte en agentes carcinógenos.<sup>1</sup>

El gen p53 es un factor de transcripción localizado en el brazo corto del cromosoma 17. Sus niveles aumentan cuando las células están sujetas a la acción de agentes deletéreos tales como la luz ultravioleta, la radiación o agentes químicos, que tienen la capacidad de inducir daño en la molécula del ADN. El factor de transcripción p53 es un sensor de este daño y si identifica que el daño no es tan grave entonces induce su reparación, lo que permite continuar el ciclo celular pero si el daño es mayor induce la muerte celular programada o apoptosis.<sup>2</sup> Si el p53 presenta mutaciones, estas funciones no pueden llevarse a cabo, por otra parte, más de la mitad de las neoplasias en el humano tienen mutaciones somáticas adquiridas de p53.<sup>3,4</sup>

Los tumores de piel son el tipo más frecuente de neoplasia humana. El cáncer de piel ha mostrado un aumento paulatino a nivel mundial y constituye un problema de salud pública.<sup>5</sup> Más de 80% de ellos corresponden a cánceres de piel no melanoma –carcinoma basocelular (CBC) y carcinoma espinocelular (CEC)–, los que no tienen alta mortalidad pero producen una alta discapacidad en las personas.<sup>6</sup> El melanoma maligno representa un porcentaje bajo, sin embargo, por su agresividad es el responsable de la mayoría de las defunciones ocasionadas por cáncer de piel.<sup>7-16</sup>

La formación de un cáncer de piel no melanoma pasa por tres estadios: inicio, promoción y progresión, en los cuales está implicada la radiación UV como agente carcinogénico. Durante la fase inicial, los fotoproductos no reparados originados por efecto de la radiación UV pueden ocasionar mutaciones en regiones codificantes de oncogenes y genes supresores de tumor. La exposición UV crónica da lugar a la aparición de un tumor benigno (como la queratosis actínica)<sup>11</sup> formado a partir de la expansión clonal de células epidérmicas portadoras de modificaciones en diferentes genes como el protooncogén ras o el gen supresor p53. Una irradiación UV continua permite la progresión tumoral mediante la selección de clones de células resistentes a la apoptosis. La exposición solar prolongada tiene además un segundo efecto carcinogénico por la pérdida de la

interacción Fas-I/Fas consecuencia de la acumulación de mutaciones en p53.<sup>12</sup>

Ouhtit y col. (1998) encontraron a través de un estudio de casos y controles que las mutaciones que comprometen a los codones 247 y 248 del gen p53 causadas por la radiación UV están asociadas con un incremento del riesgo de CBC.<sup>17</sup> La revisión bibliográfica realizada no ha encontrado estudios que asocien a la expresión de la proteína p53 con múltiples lesiones en CBC.

El objetivo de la presente investigación fue demostrar que la expresión moderada-alta de la proteína p53 constituye predictor de los CBC de localización múltiple en pacientes del Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú (HCFAP).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Diseño, población y muestra

Se realizó un estudio de casos y controles. La población de estudio estuvo constituida por 42 pacientes con diagnóstico de CBC en diferentes ubicaciones (grupo de casos) captados en el servicio de Dermatología del HCFAP. Así mismo, se contó con 84 pacientes con diagnóstico de CBC de localización única (grupo control) pareados por edad y por lugar de ubicación de la lesión (dos controles por cada paciente) con el grupo de casos. Los criterios de selección fueron los siguientes:

#### GRUPO DE CASOS

- ▲ Criterios de inclusión. Paciente de cualquier edad y sexo con dos o más diagnósticos de CBC confirmados por estudio anatomopatológico. Casos con medición de expresión de la proteína p53 en la primera lesión.
- ▲ Criterios de exclusión. Resultado de anatomía patológica incompleto, pacientes con síndrome de Gorlin.

#### GRUPO CONTROL

- ▲ Criterios de inclusión. Pacientes con diagnóstico de CBC de localización única confirmado por estudio anatomopatológico pareados por edad y localización en una relación de 2:1 con los casos. Casos con medición de expresión de la proteína p53 en la lesión única de CBC.
- ▲ Criterios de exclusión. Resultado de anatomía patológica incompleto.

No se realizó muestreo, se trabajó con la totalidad de pacientes del grupo de casos y controles que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión.

### Técnica y método

Se revisó los resultados de anatomía patológica de lesiones de piel en el HCFAP, en el período de enero 2009 a

mayo 2014, de los cuales se obtuvo 305 casos que tenían diagnóstico de CBC. Posteriormente, se hizo la búsqueda de los pacientes a los cuales se le había diagnosticado más de un carcinoma basocelular, los cuales se presentaron en diferentes ubicaciones y en diferentes periodos de tiempo, obteniéndose un total de 42 casos de CBC múltiple.

Se revisó los informes anatomopatológicos con diagnóstico de CBC y se obtuvo la edad, el sexo, la localización de la lesión y el tipo histológico. Luego, se revisó las láminas anatomopatológicas y se realizó la medición de la expresión de la proteína p53 tanto de los casos como de los controles mediante inmunohistoquímica. Para el grupo de casos se consideró la medición de la expresión de la proteína p53 en la primera de las lesiones en aparecer; mientras que, para el grupo control la medición en la lesión única.

### Inmunohistoquímica

Las muestras fueron teñidas con el método estreptavidina-biotina-peroxidasa, y se sometió los cortes secuencialmente a lo siguiente: 1) peróxido de hidrógeno al 3% por 10 min; 2) bloqueo con proteínas inertes por 10 min; 3) anticuerpo murino anti-p53 diluido 1/100 por 20 min; 4) anticuerpo biotinilado anti-IgG por 10 min; 5) complejo estreptavidina-peroxidasa por 10 min; 6) revelado con adición de diaminobencidina (DAB)-peróxido de hidrógeno por tiempo suficiente hasta que se observó cambio de color en los controles (aproximadamente 2 min). Se lavó las láminas con agua destilada después de los pasos 1 y 6, y con PBS-Tritón después de los pasos 3, 4 y 5. Finalmente, se contracoloró con hematoxilina de Mayer, se deshidrató, aclaró y realizó el montaje con bálsamo de Canadá.

La reacción positiva se evidenció con una tinción intranuclear marrón. Se leyó 10 campos a 400 aumentos y se clasificó la reactividad como negativa (ausencia de núcleos teñidos), positiva leve (tinción de menos de 50%), positiva moderada (de 50% a 74% de los núcleos) y positiva alta (tinción de más de 75%).

### Procesamiento y análisis de datos

El análisis estadístico fue realizado en el programa SPSS versión 22.0 para Windows. Se realizó un análisis estadístico univariado y se obtuvieron frecuencias, porcentajes, medidas de tendencia central y dispersión. Para el análisis bivariado, se empleó la prueba de ji cuadrado de Pearson y el test de Student, previa realización del test de homogeneidad de varianzas de Levene. Para el análisis multivariado, se empleó un modelo de regresión logística binaria y se obtuvo el *odds ratio* ajustado (OR<sub>Aj</sub>) con control de variables potencialmente confusoras. Los cálculos fueron realizados con un nivel de confianza de 95%.

### Aspectos éticos

En relación a los aspectos éticos, el estudio no implicó procedimientos en pacientes sino que consistió en la revisión de historias clínicas, resultados de anatomía patológica y lectura de la expresión de la proteína p53, por lo cual no fue necesario el consentimiento informado. Se garantizó respeto y confidencialidad de la información obtenida la cual ha sido usada solo con fines del presente estudio.

### RESULTADOS

Se incluyó en el estudio a 42 pacientes con diagnóstico de CBC de localización múltiple, la edad promedio en el grupo de casos fue de 76,5 años  $\pm$  13,8 y en el grupo control fue de 77,6  $\pm$  12,4 años para lo cual no existió diferencia estadísticamente significativa (test de Student,  $p=0,653$ ) observándose que la varianza de las edades en ambos grupos fue homogénea (prueba de Levene;  $p=0,653$ ). En el grupo de casos, el porcentaje de varones y mujeres fue de 64,3% y 35,7%, respectivamente; mientras que, en el grupo control fue de 76,2% de varones y 23,8% de mujeres para lo cual no existió diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

La proporción de pacientes que por inmunohistoquímica tuvieron intensidad de expresión moderada-alta de la proteína p53 en el grupo de casos fue de 93% (39/42) en comparación con el grupo de controles 68% (57/84) para lo cual existió diferencia estadísticamente significativa (ji cuadrado de Pearson;  $p<0,001$ ). El análisis multivariado con control de las variables edad y sexo encontró que la expresión moderada-alta de la proteína p53 fue significativamente mayor en los pacientes con CBC de localización múltiple, se obtuvo una razón de posibilidades ajustado de 5,9 (IC95%: 1,655-20,932). Tabla 1.

Tabla 1. Análisis multivariado\* de la expresión de la proteína p53 y de variables potencialmente confusoras.

Variables	$\beta$	EE	OR <sub>Aj</sub>	IC95% para OR <sub>Aj</sub>	
				Inferior	Superior
▲ Edad	0,571	0,848	1,771	0,336	9,331
▲ Sexo	-0,472	0,449	0,624	0,259	1,504
▲ Expresión p53 moderada-alta	1,772	0,647	5,885	1,655	20,932
▲ Constante	-1,355	1,335	0,258		

\* Regresión logística binaria.

EE = error estándar; OR<sub>Aj</sub> = *odds ratio* (razón de posibilidades) ajustado

Tabla 2. Media y desviación estándar de la expresión de la proteína p53 (expresada en porcentaje) según grupo de investigación.

Grupo de investigación	n	Media	Desviación estándar
▲ Casos	42	64,5%	19,2%
▲ Controles	84	30,2%	17,2%

Al compararse la expresión de la proteína p53 con base en la tinción de los núcleos celulares en la inmunohistoquímica, se encontró que en el grupo de casos fue de 64,5% ± 19,2% en comparación con el grupo de controles 30,2% ± 17,2% para lo cual existió diferencia estadísticamente significativa (prueba t de Student;  $p < 0,001$ ) (Ver tabla 2 y figura 1).

## DISCUSIÓN

Las neoplasias cutáneas constituyen patologías de considerable frecuencia en la consulta dermatológica. En Perú ocupa el cuarto lugar entre los cánceres diagnosticados en establecimientos del Ministerio de Salud, lo que conlleva a discapacidad de los pacientes y elevados costos para el estado.<sup>16-20</sup> La radiación ultravioleta A y B están implicadas en la génesis de estas neoplasias observándose que más de 90 % de los tumores epiteliales de células escamosas y más de 50 % de los CBC de la población de algunos países presentan mutaciones producidas por la radiación UV en el gen p53, encargado de la supresión tumoral.<sup>21,22</sup>

El presente estudio contrasta la expresión de la proteína p53 con la aparición de múltiples CBC. Se encontró que los pacientes con expresión moderada-alta tuvieron mayor posibilidad de presentar un CBC con lesiones múltiples en comparación con los que tuvieron expresión baja lo que podría indicar que la expresión de la proteína p53 podría constituir un predictor de la aparición de nuevos CBC. Si bien existen investigaciones en donde está bien evidenciado el rol del gen p53 en la génesis de los tumores cutáneos en ninguno se compara la mutación en casos de CBC únicos versus múltiples.<sup>17,23</sup>

Esto podría justificar la realización del estudio de la expresión de la proteína p53 a todos los pacientes con CBC en su primera lesión permitiendo tomar una decisión terapéutica en lesiones premalignas así como un programa de seguimiento más cercano. En el HCFAP, la determinación de la expresión de la proteína p53 mediante inmunohistoquímica tiene un costo de 80 soles (23 dólares), el cual no es elevado frente a asumir una decisión terapéutica futura, particularmente en aquellos con múltiples factores de riesgo (fototipo, exposición solar prolongada, edad, etc.).<sup>24</sup>

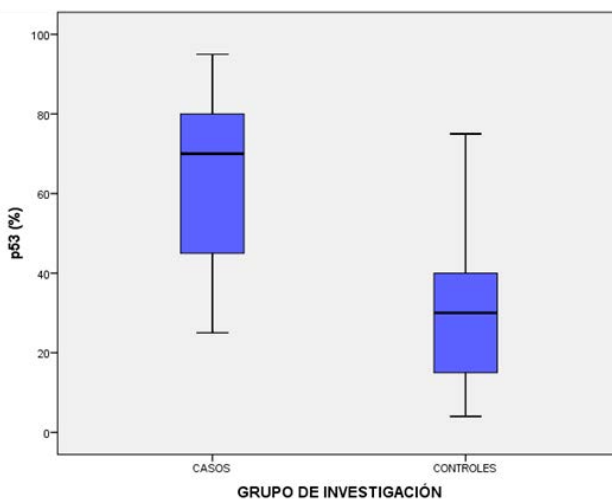


Figura 1. Expresión de proteína p53 expresada en porcentaje, según grupo de investigación.

Se requiere investigaciones prospectivas que permitan establecer su uso como predictor de lesiones múltiples de CBC así como su valor diagnóstico en términos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos.

Una limitación del estudio es que, dado el carácter retrospectivo de la investigación no es posible establecer que los pacientes con lesión única hayan desarrollado lesiones adicionales en el futuro y que estas hayan sido subregistradas al atenderse en otro establecimiento. Sin embargo, dado que el personal de la Fuerza Aérea Peruana se encuentra asegurado y recibe subvención total o parcial de la atención y tratamiento, por esto es poco probable. Por otro lado, el número pequeño de pacientes aunque es suficiente ha influenciado en los intervalos de confianza de las estimaciones; sin embargo, esto no altera las asociaciones encontradas.

En conclusión, la expresión moderada-alta de la proteína p53 en la lesión inicial constituye factor de riesgo para localización múltiple en CBC, en pacientes del HCFAP. Así, la expresión de la proteína p53 podría constituir predictor de la aparición de nuevos CBC.

## AGRADECIMIENTO

Al doctor Julio Valdivia Silva, por la revisión crítica del artículo y por sus valiosos aportes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Di Martino Ortiz. Expresión de p53, proteína BC2 y Ki67 en carcinoma basocelular. *An Fac Cienc Med (Asunción)*. 2010;43(1):47-50.
2. Zhang H, Li Ping X, Lee PK, Li Woo X, Juan Yao Y, Jian Zhang M. PTCH and p53 mutations in early onset BCC. *Am J Pathol*. 2001;158(2):381-5.
3. Ghaderi R, Haghghi F. Immunohistochemistry Assessment of p53 protein in basal cell carcinoma. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2005;4(4):167-71

4. Salamanca-Gómez F. Células troncales, cáncer y p53. *Gac. Méd Mex.* 2009; 145(5):441-2.
5. Gallagher RP. Sunscreens in melanoma and skin cancer prevention. *CMAJ.* 2005;173(3):244-5.
6. Miller DL, Weinstock MA. Nonmelanoma skin cancer in the United States: incidence. *J Am Acad Dermatol.* 1994;30:774-8.
7. Houghton AN, Polsky D. Focus on melanoma. *Cancer Cell* 2002;2:275-8.
8. Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall B. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol.* 2012;166:1069-80.
9. Goldberg LH. Basal cell carcinoma. *Lancet.* 1996; 347:663-7.
10. Black HS, de Gruijl FR, Forbes PD, Cleaver JE, Ananthaswamy HN, de Fabo EC, et al. Photocarcinogenesis: an overview. *J Photochem Photobiol B* 1997;40(1):29-47.
11. Ziegler A, Jonason AS, Leffell DJ, Simon JA, Sharma HW, Kimmelman J, et al. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature.* 1994;372(6508):773-6.
12. Cabrera-Morales CM, Lopez-Nevot MA. Efectos de la radiación ultravioleta en la inducción de mutaciones de p53 en tumores de piel. *Oncología.* 2006;29(7):291-8.
13. Nova-Villanueva J, Sánchez-Vanegas G, Porras L. Cáncer de piel: perfil epidemiológico de un centro de referencia en Colombia. *Rev Salud Publica.* 2007;9:595-601.
14. Nova Villanueva JA. Carcinoma basocelular, un problema de salud pública. *Bol Dermatol.* 2013;11(1):2-3.
15. Dirección General de Epidemiología, Ministerio de Salud. Análisis de la situación del cáncer en el Perú; 2013. Lima: DGE/Minsa; 2013.
16. Registro de Cáncer en Lima Metropolitana 1990-1993. Lima: Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas; 1998.
17. Ouhtit A, Nakazawa H, Armstrong BK, Kricger A, Tan E, Yamasaki H, et al. UV-radiation-specific p53 mutation frequency in normal skin as a predictor of risk of basal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(7):523-31.
18. Revenga F, Paricio J, Vázquez M, Villar V. Descriptive epidemiology of basal cell carcinoma and cutaneous squamous cell carcinoma in Soria (north-eastern Spain) 1998-2000: a hospital-based survey. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2004;18(2):137-41.
19. Negrin-Diaz ML. Carcinoma basocelular. *Dermatol Venez.* 2008;46(1):4-16.
20. Ramos W, Venegas D, Medina J, Guerrero P, Cruz A. Análisis de la Situación del Cáncer en el Perú; 2013. Lima: Dirección General de Epidemiología/Minsa; 2013.
21. Autier P. Skin cancer and environmental factors. *Rev Medic Brux.* 1998;19(4):A346-50.
22. Brash De, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis and tumor promotion. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 1996;1(2):136-42.
23. McGregor JM, Harwood CA, Brooks L, Fisher SA, Kelly DA, O'nions J, et al. Relationship between p53 codon 72 polymorphism and susceptibility to sunburn and skin cancer. *J Invest Dermatol.* 2002;119(1):84-90.
24. Sánchez Vanegas G, Nova J, de la Hoz F. Factores de riesgo de carcinoma basocelular. Un estudio del Centro Nacional de Dermatología de Colombia. *Actas Dermosifiliogr.* 2012;103(4):293-300.